

for IBS (B)

1/1 PLUSPAT - (C) QUESTEL·ORBIT

PN - JP8176212 A 19960709 [JP08176212]

TI - (A) METHOD OF SURFACE-MODIFYING MAGNETIC PARTICLE

PA - (A) JAPAN SYNTHETIC RUBBER CO LTD

PA0 - (A) JAPAN SYNTHETIC RUBBER CO LTD

IN - (A) KASAI KIYOSHI; HAN YOSHIKIMI; KITAJIMA MASAAKI; HIRAHARU
AKIO

AP - JP33560894 19941221 [***1994JP-0335608***]

PR - JP33560894 19941221 [1994JP-0335608]

STG - (A) Doc. Laid open to publ. Inspec.

AB - PURPOSE: To produce a surface-modified magnetic particles useful as a support for a diagnostic agent, a support for separating bacteria or cells, a support for separating and purifying a nuleic acid or a protein, a support for drug delivery, a magnetic toner or the like.

- CONSTITUTION: 100 pts.wt. dry powder of magnetic polymer particles containing 1·80wt.% magnetic substance is allowed to absorb 2·200 pts.wt. hydrophobic polymerizable monomer, and the mixture is dispersed in water and subjected to a polymerization reaction in the presence of an oil-soluble polymerization initiator.

- COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-176212

(43)公開日 平成8年(1996)7月9日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 F	2/44	MCQ		
	2/18	MBD		
C 0 9 C	1/24	PAN		
	3/10	PBW		
G 0 1 N	33/545	A		

審査請求 未請求 請求項の数1 FD (全7頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平6-335608	(71)出願人 日本合成ゴム株式会社 東京都中央区築地2丁目11番24号
(22)出願日 平成6年(1994)12月21日	(72)発明者 笠井 澄 東京都中央区築地2丁目11番24号 日本合成ゴム株式会社内
	(72)発明者 范 可君 東京都中央区築地2丁目11番24号 日本合成ゴム株式会社内
	(72)発明者 北島 政明 東京都中央区築地2丁目11番24号 日本合成ゴム株式会社内
	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 磁性粒子の表面改質方法

(57)【要約】

【目的】 診断薬担体、細菌あるいは細胞分離担体、核酸あるいは蛋白分離精製担体、ドラッグデリバリー担体、磁性トナー等として有用な表面改質された磁性粒子の製造方法を提供する。

【構成】 磁性体を1～80重量%含有する磁性ポリマー粒子の乾燥粉体100重量部に疎水性重合モノマー2～200重量部を吸収させ、ついで水中に分散させた後、油溶性重合開始剤を用いて重合することを特徴とする磁性粒子の表面改質方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 磁性体を1～80重量%含有する磁性ポリマー粒子の乾燥粉体100重量部に疎水性重合モノマー2～200重量部を吸収させ、ついで水中に分散させた後、油溶性重合開始剤を用いて重合することを特徴とする磁性粒子の表面改質方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、診断薬担体、細菌あるいは細胞分離担体、核酸あるいは蛋白分離精製担体、ドラッグデリバリー担体、磁性トナー等として有用な表面改質された磁性粒子の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】 磁性ポリマー粒子は磁力により容易に吸着される特徴により、診断薬担体、細胞、蛋白あるいは核酸の分離精製担体等において、優れた取り扱い性が得られると期待されている。これまで知られている磁性粒子の代表的な合成法を挙げるとつきの様なものがある。まず、ポリマー粒子の内部に磁性体が存在するタイプとしては、特開昭59-221302では親油化処理した磁性体を重合性モノマーに分散し、これを懸濁重合する方法が開示されている。特公平4-3088では同じく親油化処理した磁性体を重合性モノマーに分散し、モホジナイザーで水中に均質化して重合することにより比較的小粒径の磁性粒子を得ている。特公平5-10808では、特定の官能基を有する多孔性ポリマー粒子の存在下に鉄化合物を析出させ酸化することで粒子内部に磁性体が入り、大粒径かつ均一径の磁性ポリマー粒子が合成されることが示されている。一方、粒子表面に磁性体が存在するタイプとしては特開平3-115862あるいは特開平5-138009にてポリマー粒子エマルジョンのなかで鉄化合物を析出させてポリマー粒子の表面をフェライト化する方法が開示されている。

【0003】 これら従来の磁性粒子を診断薬担体等に用いると、磁性体が内部にあるタイプあるいは表面に存在するタイプによらず、多くの場合、感度が大幅に低下したり、非特異酵素反応を示して良好な実用性能が得られない。これは磁性粒子の表面に磁性体が部分的に露出し、あるいは表面と内部の磁性体の間にミクロパスが形成されているため、鉄成分が外部に溶出して実用性能に悪影響をしているものと考えられている。特開平2-286729では磁性体粒子をコアとして疎水性架橋モノマーを水中で重合して磁性体を内包した磁性粒子を開示しているが、これでも十分ではない。また、特公平5-16164では磁性粒子の表面に非磁性のポリマー層を形成させた構造が開示されているが、その具体的な方法は界面重縮合法とスプレードライ噴霧法のみしか示されておらず適用範囲が限られている。このため、これまでの磁性粒子の使用は鉄成分の溶出のため、これが問題な

い分野に限定的に使用されている状況である。磁性粒子の使用拡大のためには磁性体が完全に内包されている粒子の合成が求められていた。

【0004】

05 【課題を解決するための手段】 本発明者らは、従来の磁性粒子に対しても有効に作用する表面処理法の開発を目指して鋭意検討を重ねた結果、表面を完全に被覆する表面改質方法を完成させた。これにより、従来の磁性粒子に対してもこの表面改質法を用いると鉄成分の溶出のない磁性粒子が得られ、磁性粒子の実用性を大幅に高めることが可能になった。すなわち、本発明は磁性体を1～80重量%含有する磁性ポリマー粒子の乾燥粉体100重量部に疎水性重合モノマー2～200重量部を吸収させ、ついで水中に分散させた後、油溶性重合開始剤を用いて重合することにより得られる表面改質された磁性粒子を提供する。

10 【0005】 本発明の表面改質された磁性粒子のための基になる磁性ポリマー粒子としては粒子径0.05μm～100μm、好ましくは0.1μm～15μmである。磁性ポリマー粒子中の磁性体には特に制限はないが、酸化鉄系磁性体が好適に使用できる。磁性体の粒子径は小さいほど粒子内部に分散しやすい点から好ましく、磁性体粒子径20nm以下の超常磁性磁性体が特に好ましい。また、本発明の磁性ポリマー粒子のポリマー

15 成分としては、後記する疎水性重合モノマーから選ばれる少なくとも一種のモノマーの（共）重合体であり、好ましくは芳香族ビニル化合物、（メタ）アクリル酸エステル、不飽和カルボン酸などのからなるモノマーの（共）重合体である。本発明で適用できる磁性ポリマー粒子の合成法には特に制限ではなく、親油化処理した磁性体を重合性モノマーに分散し、これを懸濁重合する方法、親油化処理した磁性体を重合性モノマーに分散し、モホジナイザーで水中に均質化して重合する方法、官能基を有する多孔性ポリマー粒子の存在下に鉄化合物を析出させ酸化する方法、ポリマー粒子エマルジョンの中で鉄化合物を析出させる方法など、前記従来の技術例示した合成法で合成された磁性ポリマー粒子が好適に使用できる。本発明で適用できる磁性ポリマー粒子に含有する磁性体の量は1～80重量%、好ましくは5～70重量%、さらに好ましくは10～60重量%である。磁性体の量が1重量%より少ないと磁気性能が不足して磁性ポリマー粒子としての目的を果たさない。また、磁性体含量が80重量%を越えると磁性体が多すぎポリマー粒子としての機能がなくなり本発明の磁性粒子の素材として適さない。

20 【0006】 本発明の表面改質を行うには、乾燥した磁性ポリマー粒子の粉体に対して処理を行う。これまで粒子を粉体状でモノマー吸収処理し重合すると粒子が融着してしまうことが常識とされており、これを避けるため50 に水分散体状の磁性粒子に対してこれにシード重合を行

なうことが通常であった。シード重合では粒子の表面被覆の効率が悪く、またその適用範囲が狭いとの問題があった。しかし、驚くべきことに、本発明の方法を用いると、粉体の磁性ポリマー粒子であっても表面処理を緻密にかつ強固に行うことが可能になってその効果が大幅に向上了。本発明での乾燥した磁性ポリマー粒子の乾燥度は厳密なものでなくともよく、水分含有量5重量%程度以下であればよい。磁性ポリマー粒子は粒子表面の疎水化処理をあらかじめ行っておくことが好ましい。疎水化処理としてはシランカップリング剤あるいはチタンカップリング剤が好ましく、これらを水または溶剤に溶解して磁性ポリマー粒子に添加して疎水化処理すればよい。疎水化処理により本発明の粒子表面改質をさらに強固に行うことが出来る。

【0007】本発明において乾燥した磁性ポリマー粒子に吸収させる疎水性重合モノマーとしては20℃での水への溶解度が1重量%以下のビニル系ラジカル疎水性重合モノマーである。使用する疎水性重合モノマーは1種または多種混合して使用できる。疎水性重合モノマー中では20℃での水への溶解度が1重量%より大きいモノマーが存在してもよいが、その量は疎水性重合モノマーの30重量%以内であり、かつ、水への溶解度の重量加重平均が1重量%を越えないことが必要である。ここで水への溶解度が1重量%を越えると磁性ポリマー粒子への表面改質が不十分となり本発明の効果が得られない。

【0008】本発明で使用できる疎水性重合モノマーの具体的例を挙げると、スチレン、ビニルトルエン、 α -メチルスチレン、ジビニルベンゼンなどの芳香族ビニル化合物、(メタ)アクリル酸メチル、(メタ)アクリル酸2-ヒドロキシエチル、(メタ)アクリル酸t-ブチル、(メタ)アクリル酸n-ヘキシル、(メタ)アクリル酸シクロヘキシル、(メタ)アクリル酸2-エチルヘキシル、(メタ)アクリル酸ラウリル、(メタ)アクリル酸ステアリル、(メタ)アクリル酸ベンジル、(ポリ)エチレングリコールのモノあるいはジ(メタ)アクリレート、(ポリ)プロピレングリコールのモノあるいはジ(メタ)アクリレート、1,4-ブタンジオールのモノあるいはジ(メタ)アクリレート、トリメチロールプロパンのモノ、ジーあるいはトリー(メタ)アクリレートなどの不飽和カルボン酸エステル類、ジアリルフタレート、ジアリルアクリルアミド、トリアリル(イソ)シアヌレート、トリアリルトリメリテートなどのアリル化合物；(ポリ)エチレングリコールジ(メタ)アクリレート、(ポリ)プロピレングリコールジ(メタ)アクリレートなどの(ポリ)オキシアルキレングリコールジ(メタ)アクリレートなどが挙げられる。また、アクリル酸、メタクリル酸、イタコン酸、フマル酸、グリシジルメタクリレート、ビニルピリジン、ジエチルアミノエチルアクリレート、N-メチルメタクリアミド、アクリロニトリルなどの官能基含有モノマーが

挙げられ、好ましいモノマーとしてはスチレン、ジビニルベンゼン、(メタ)アクリル酸などが挙げられる。

【0009】本発明において磁性ポリマー粒子粉体に疎水性重合モノマーを吸収させるには、該疎水性重合モノマーを直接磁性ポリマー粒子粉体に添加し混合することができるが、好ましくは疎水性重合モノマーを有機溶剤に溶解して添加し、磁性ポリマー粒子とよく混合後、有機溶剤を蒸発乾燥させることができ。ここで使用する有機溶剤は低沸点でかつ磁性ポリマー粒子のポリマーを溶解しないものである必要がある。具体的にはアセトン、メタノール、イソプロピルアルコール、エチルエーテル、トルエンなどが挙げられ、使用するモノマーおよび磁性ポリマー粒子のポリマー組成に応じて選定する。なお、このとき疎水性重合モノマーあるいは有機溶剤に油溶性重合開始剤を添加しておくことができ、各粒子を均一に重合させるために好ましい。本発明において、有機溶剤としては磁性ポリマー粒子粉体と疎水性重合モノマーとの混合物がペースト状から流動化する程度の粘度になる量を加えることが好ましい。具体的には、
20 磁性ポリマー粒子粉体100重量部に対して疎水性重合モノマーと有機溶剤の合計が200~300重量部となる程度である。本発明で磁性ポリマー粒子に添加する疎水性重合モノマーの量は磁性ポリマー粒子100重量部に対し2~200重量部、好ましくは10~150重量部、さらに好ましくは30~100重量部である。2重量部より少ないと本発明の効果が得られず、200重量部を越えると粒子表面以外での疎水性重合モノマーの重合の比率が増え磁性粒子を含まない粒子の生成が過多となる。
30 【0010】本発明で疎水性重合モノマーを吸収した磁性ポリマー粒子を水中には再分散させるために超音波分散機あるいは高剪断速度の分散機を使用することが好ましい。超音波分散機の形式には特に制限はなく、ホーン型あるいはプレート型の発振子をつけたもの、あるいは発振部に液を流通させる連続式のものを用いることができる。高剪断速度の分散機としてはホモミキサー、コロイドミル、ジェットホモジナイザー、高圧ホモジナイザーなどが挙げられ、これらはいずれも好適に使用できる。しかし、試料液にかかる剪断速度が低いと処理効果がなく、本発明では2000s⁻¹以上、好ましくは5000s⁻¹以上の剪断速度が必要である。本発明において超音波分散機を使わない、あるいは2000s⁻¹より低い剪断速度での分散機で粒子を水中に再分散すると、見かけ上は再分散したように見える場合もあるが、複数の粒子が互いに凝集付着した状態であり水中に单一粒子として分散しない。このため、これを重合すると融着した粒子しか得られない。粒子を分散する水中にはあらかじめ界面活性剤あるいは分散剤を添加することができ、アニオン系界面活性剤、ノニオン界面活性剤、水溶性高分子が使用される。このうち特にノニオン
40
45
50

界面活性剤あるいはノニオンアニオン型界面活性剤が好適に使用できる。

【0011】本発明で疎水性重合モノマーを吸収し水中に再分散した磁性ポリマー粒子を重合するには、油溶性重合開始剤を用いる。水溶性の重合開始剤を用いると磁性ポリマー粒子の表面での重合ではなく、磁性粒子を含まない疎水性重合重合モノマーのみが重合した新粒子が多量に生じて本発明の目的を達しなくなる。本発明での油溶性重合開始剤としては、ベンゾイルペルオキシド、ラウロイルペルオキシド、アゾビスイソブチロニトリル等の過酸化化合物、アゾ化合物が挙げられる。油溶性重合開始剤の使用量は疎水性重合モノマーに対して一般的には0.5～5重量%である。油溶性重合開始剤の添加方法は、磁性ポリマー粒子に疎水性重合モノマーを吸収させるときに疎水性重合モノマーあるいは有機溶剤とともに添加することが好ましいが、重合の直前に重合組成液に直接あるいは少量のアルコール等に溶解して添加することも可能である。本発明の重合には脱酸素し、無酸素雰囲気下で重合する。重合温度は用いる重合開始剤によって定まるが、例えばベンゾイルペルオキシドを用いる場合は75～85℃で好適に重合できる。

【0012】

【作用】本発明の表面改質によれば、表面がポリマーで強固に密に被覆された磁性粒子が得られる。このために本発明により得られる被覆された磁性粒子は粒子内部の鉄成分の溶出が全くなく、従来の非磁性のポリマー粒子と同等の粒子の取り扱いができる、性能が得られる。これにより、診断薬として広い範囲の抗原、抗体、蛋白、核酸等を吸着あるいは化学結合させることができた。また、酵素免疫法の診断薬において鉄塩の溶出による非特異発色が抑えられ、診断薬としての実用性が高まった。本発明の方法により表面改質された磁性粒子は表面に磁性体の露出が全くないため、磁性トナーとして有用である。従来、磁性トナーは表面の磁性体の存在のためにトナー使用時の温度湿度によりトナー性能が変化するとの問題があった。本発明の表面改質された磁性粒子はトナーの使用環境条件による性能変化が少ない特徴がある。

【0013】

【実施例】本発明を実施例によってさらに詳しく説明する。本実施例において「%」は「重量%」を「部」は「重量部」を表す。

実施例1

(1) 磁性ポリマー粒子の製造

超常磁性フェライト(平均粒子径10nm)20gを0.005モル/リットルの塩化第二鉄水溶液60g中に分散してフェライト粒子の表面に正の電荷を与えた。次にこの水溶液に濃度10%のオレイン酸ナトリウム水溶液40gを加えて温度30℃で60分間にわたり攪拌を行った。次にこれにスチレン15gおよびジビニルベ

ンゼン5gを加え、希塩酸を用いて混合液をpH6～7に調製した。(スチレンとジビニルベンゼンの水溶度の加重平均は0.5%)

このとき、フェライトの粒子表面はオレイン酸が吸着されて親油化処理されたものとなり、このフェライトは水相からスチレン相に移動し沈殿するので水相を除去して水洗を充分に行った。次にスチレン相にベンゾイルペルオキシド1gを溶解したスチレン15gを加えて親油化処理されたマグネタイト1gを分散した。次に、このスチレン相をポリビニルアルコール「ゴーセノールGH17」(日本合成化学株式会社製)の2%水溶液200g中に加え、直径5cmのプロペラ型攪拌翼を用いて回転数5000rpmで10分間攪拌を行い、マグネタイトを含有するスチレンの油滴を分散してその粒子径を0.1～4μmにした。このようにして得られた懸濁液を容量500ミリリットルのセパラブルフラスコに移し、窒素雰囲気下において回転数120rpmで攪拌しながら濃度80℃で6時間にわたり懸濁重合を行い、磁性ポリマー粒子を得た。この磁性ポリマー粒子の主粒子径は1.4μm、粒子径分布が0.5～7μm、磁性体含量49%、固体分濃度19%の分散体であった。この粒子をベース磁性粒子(1)とした。

【0014】(2) 上記のベース磁性粒子(1)水分散体を乾燥した粉体10gをアセトン100ミリリットルに分散し、チタンカップリング剤(ブレンクトKRTTS)0.2gを加え、アセトンの蒸発後一夜乾燥後させた。乾燥粒子をよくほぐし、モノマーとして、スチレン4g、ジビニルベンゼン0.5g、メチルメタクリレート0.5g、重合開始剤としてベンゾイルペルオキシド0.1g、有機溶剤アセトン10gの混合物を加え、よく混合した後、常温にて解放状態で一夜放置してアセトンを蒸発させるとともに磁性ポリマー粒子にモノマーを吸収させた。

【0015】上記粒子を再度ほぐし、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルの0.5%水溶液1リットルに加え、剪断速度12000cm⁻¹であるホモミキサーを用いて10分間の高剪断速度での分散を行った。このとき光学顕微鏡で観察したところ粒子は單一で分散しており、凝集粒子は存在しない状態であった。つぎに、上記分散液の窒素置換した後、80℃で8時間の重合を行った。重合後、重合液には凝集物はなく、ガスクロ分析では残存モノマーはほぼゼロであった。光学顕微鏡及び電子顕微鏡観察では凝集した粒子、融合した粒子は見られなかった。電子顕微鏡での平均粒子径は1.5μm、粒径分布はベース磁性粒子(1)とほぼ同等であった。

これを実施例1の磁性粒子とした。

【0016】比較例1～および実施例2および3

粒子分散の際の剪断速度の影響を知るために、実施例1でのホモミキサーでの粒子分散のところを剪断力の異なる分散機、攪拌機をもちいて試作し、比較例1、2、実

施例2、3、4とした。なお、実施例4では槽型超音波分散機（周波数28KHz、出力80W）で30分間処

実験No	装置	剪断速度 (sec ⁻¹)	重合後の粒子の状
比較例1	プロペラ攪拌機 (200RPM)	55	凝集、融着粒子
比較例2	ホモミキサー (1000RPM)	1500	凝集粒子が多い
実施例2	ホモミキサー (1500RPM)	2200	ほぼ単一粒子
実施例1	ホモミキサー (10000RPM)	12000	単一粒子
実施例3	高圧ホモジナイザー (200気圧)	1×10^6	単一粒子
実施例4	超音波分散機 (80W, 30分)	—	単一粒子

【0017】実施例5

(1) 磁性ポリマー粒子の製造

脱イオン水600ミリリットル、スチレン6ミリリットルおよび平均粒径0.8μm以下のフェライトを8.6%含有する懸濁液80ミリリットルの混合物をシールしたビンへ入れた。ビンを脱気し、55℃のオーブン中1時間で約66rpmで回転した。この混合物へ過硫酸カリウム12gと平均粒径4μmのポリスチレン粒子を5%含有する懸濁液850ミリリットルを添加した。ビンを再シールし、脱気し、1時間回転後、2%ドデシル硫酸ナトリウム50ミリリットルを加えた。さらに5時間後、スチレン6ミリリットルと過硫酸カリウム10gを混合物へ加えた。混合物をさらに15時間回転し、ろ過し、磁気分離し、そして上清が透明になるまで脱イオン水で数回洗浄した。得られる磁性粒子を脱イオン水で1.6リットルに再懸濁し、磁性体含有量11%、平均粒子径4.3μmの磁性ポリマー粒子（これをベース磁性粒子（2）とする。）を25%含有する懸濁液を得た。

(2) 実施例1(2)においてベース磁性粒子(1)の代わりにベース磁性粒子(2)を用いた以外は実施例1(2)と同一の操作を行い、表面改質された磁性粒子を得た。得られた磁性粒子は粒子凝集、粒子融合がなく、平均粒子径4.3μmであった。

【0018】比較例3～5

乾燥させた磁性粒子を使用せずにシード重合法でポリマー被覆すべく試みた。ベース磁性粒子(1)の分散体1リットル（固形分量10g）、ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル1gを四ツロフラスコに入れ、モノマーとしてスチレン5gを加え12時間にわたって攪拌して磁性粒子にモノマーを吸収させた後、窒素置換し、水溶性開始剤として過硫酸カリウム0.5g（比較例3）あるいはベンゾイルペルオキシド0.5g（比較例4）を加えて80℃で8時間の重合を行なった。どちらも重合は完全に行われたが、得られた粒子の電子顕微鏡観察では磁性粒子を含まない新粒子が多量に生成していた。また、比較例3において、重合前に粒子にあらかじめモノマーを全量吸収させるのではなく、1/5量を先に吸収させて重合を開始し、残量を4時間にわたって連続的に添加しつつ重合を行った。これを比較例5とし

理した。

剪断速度 (sec⁻¹) 重合後の粒子の状

た。比較例5でも比較例3と同じく磁性粒子を含まない新粒子が多量に生成した。

【0019】実施例6～9および比較例6～7

磁性粒子100部に対して吸収させるスチレン/ジビニルベンゼン/メチルメタクリレート=8/1/1（重量比）からなる疎水性重合モノマーの量を1（比較例7）、3（実施例6）、10（実施例7）、100（実施例8）、200（実施例9）、300部（比較例7）（モノマー混合物の組成は）とした以外は、実施例1と同一の操作を行った。実施例6～9は単一粒子で新粒子の発生が認められなかった。比較例6は単一粒子であるが、ポリマー被覆が不十分で後記の診断薬としての評価で実用性能の上で使えないものであった。比較例7は吸収させるモノマーが多く、吸収しきれないモノマーが磁性粒子の外で重合して新粒子が大量に発生した。

【0020】試験例

免疫診断薬担体粒子としての評価 (1) 蛋白飽和吸着量の測定

ポリマーで表面改質された磁性粒子を免疫診断薬担体粒子として評価するために、まず磁性粒子の蛋白飽和吸着量を測定した。磁性粒子の分散体を固形分で各々5mgとり、磁性粒子を磁気分離しpH7.5のリン酸生理食塩水緩衝液1mlに分散することを2回繰り返して粒子の洗浄を行った。次に各粒子にRabbit IgG抗体を10、25、50、100μgずつ添加し37℃で30分間ゆるく振盪した。ついで、磁気分離し上澄みを280nmでの吸光度測定して残存IgGをはかり、磁性粒子に吸着したIgGの量を求めた。結果を表1に示す。実施例1～9で得られた磁性粒子はきれいな飽和吸着曲線を示したが、比較例1～7で得られた磁性粒子、ベース磁性粒子(1)、(2)は一定の吸着量を示さず、診断薬の担体粒子としては問題があった。

【0021】免疫診断薬担体粒子としての評価 (2)

酵素免疫法の担体としての評価

磁性ポリマー粒子の分散体を固形分で各々10mg取り、磁性粒子を磁気分離で分離しpH7.5のリン酸生理食塩水緩衝液1mlに分散した。ついで200μgの抗ヒトIgM抗体を加え室温で1時間ゆるく振盪して磁性粒子に抗体を吸着させ感作操作をした。感作後、磁石で磁性粒子を分離し、上澄みを280nmでの吸光度測

定して吸着されない残存抗体量を測定したところ、いずれも残存抗体がなくすべての抗体が吸着していた。次に磁気分離した磁性粒子に0.5%の牛血清アルブミンと0.1%のポリエチレングリコールを含むpH7.5のリン酸生理食塩水緩衝液溶液1mlを加え、バイブレーターでよく分散し、室温で30分間ゆるく振盪して残りの粒子表面をアルブミンでブロッキング処理して酵素免疫法(ELISA法)の診断薬粒子を調整した。

【0022】ヒトIgM抗原を0, 50, 100, 500ng/mlを含むリン酸生理食塩水緩衝液をそれぞれ100μl調整し、前記の抗ヒトIgM抗体感作粒子を含む分散液20μlを加えて室温で30分間静置した。続いて磁気分離した粒子にアセチルコリンエステラーゼを結合した抗ヒトIgM抗体100μgを含む溶液200μlずつ添加しバイブレータで振動分散させ、25℃

で1時間静置した。つぎに、アセチルコリンエステラーゼの基質であるE11man's試薬(Cayman社製)を100μl加え、室温で10分間ゆるく振盪して酵素反応発色させ、反応停止液である2N硫酸を50μl加えてから、412nmの吸光度を測定した。なお、コントロールとして感作していない粒子にも同様な操作をした。結果を表2に示す。実施例の磁性粒子は、抗ヒトIgM抗体で感作しない未感作状態では発色がほとんどなく、かつ感作すると抗原量にほぼ比例した酵素発色が生じて良好な酵素免疫法の診断薬粒子であった。これに対し、ベース磁性粒子および比較例1~7の磁性粒子は未感作状態での酵素発色が高く、非特異発色性が著しいため診断薬としては使えない粒子であった。

【0023】
15 【表1】

試料No	IgGの吸着量(μg/mg粒子)			
	IgGの添加量(μg)			
	10	25	50	100
実施例1	9.2	24.4	36.8	36.7
実施例2	9.3	25.6	37.5	38.2
実施例3	9.0	23.8	35.5	35.9
実施例4	9.4	23.1	37.8	39.0
実施例5	9.2	24.5	37.2	37.3
実施例6	9.0	23.7	35.8	34.5
実施例7	9.7	24.8	33.8	34.7
実施例8	9.2	23.7	36.4	37.3
実施例9	9.7	24.5	35.9	36.4
比較例1	9.2	20.4	43.8	74.7
比較例2	9.2	23.4	36.8	66.9
比較例3	9.0	23.8	40.8	78.2
比較例4	9.2	24.5	42.8	66.7
比較例5	9.2	24.2	36.8	86.7
比較例6	9.2	24.4	47.8	94.7
比較例7	9.2	24.4	47.8	62.7
^*ス磁性粒子(1)	9.7	24.3	50.2	95.2
^*ス磁性粒子(2)	9.5	24.9	48.9	96.7

【0024】

【表2】

試料No.	吸光度値(412nm) 感作粒子 添加したヒトIgM抗原				未感作粒子 (ng)
	0	50	100	500	
実施例1	0.002	0.072	0.114	0.524	0.004
実施例2	0.004	0.074	0.120	0.518	0.003
実施例3	0.003	0.081	0.142	0.594	0.001
実施例4	0.005	0.069	0.138	0.563	0.004
実施例5	0.004	0.074	0.128	0.539	0.003
実施例6	0.010	0.082	0.137	0.572	0.012
実施例7	0.007	0.082	0.139	0.559	0.010
実施例8	0.002	0.078	0.116	0.519	0.002
実施例9	0.003	0.066	0.109	0.438	0.005
比較例1	0.429	0.484	0.528	0.738	0.438
比較例2	0.274	0.328	0.368	0.679	0.283
比較例3	0.476	0.528	0.587	0.753	0.462
比較例4	0.563	0.598	0.663	0.783	0.538
比較例5	0.327	0.383	0.411	0.674	0.332
比較例6	0.329	0.396	0.431	0.623	0.338
比較例7	0.053	0.072	0.083	0.078	0.065
ペース磁性粒子(1)	0.745	0.756	0.749	0.750	0.756
ペース磁性粒子(2)	0.849	0.832	0.844	0.814	0.894

【0025】

【発明の効果】本発明の方法により表面改質された磁性粒子は、磁性ポリマー粒子の表面に完全にポリマーを被覆し、強固な緻密な被覆層を有する。これにより、本発明の方法により表面改質された磁性粒子は吸着性能が良

好な診断薬担体、細菌あるいは細胞分離担体、核酸あるいは蛋白分離精製担体として好適に使用できる。また、副作用の少ないドラッグデリバリー担体としてあるいは
30 は、耐環境性の優れた磁性トナーとして有用である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

// G 01 N 33/553

(72) 発明者 平春 晃男

東京都中央区築地2丁目11番24号 日本合 40
成ゴム株式会社内